

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-228662

(43)Date of publication of application : 14.08.2002

(51)Int.CI.

G01N 33/543
G01N 33/53
G01N 33/566
G01N 37/00

(21)Application number : 2001-027636

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 05.02.2001

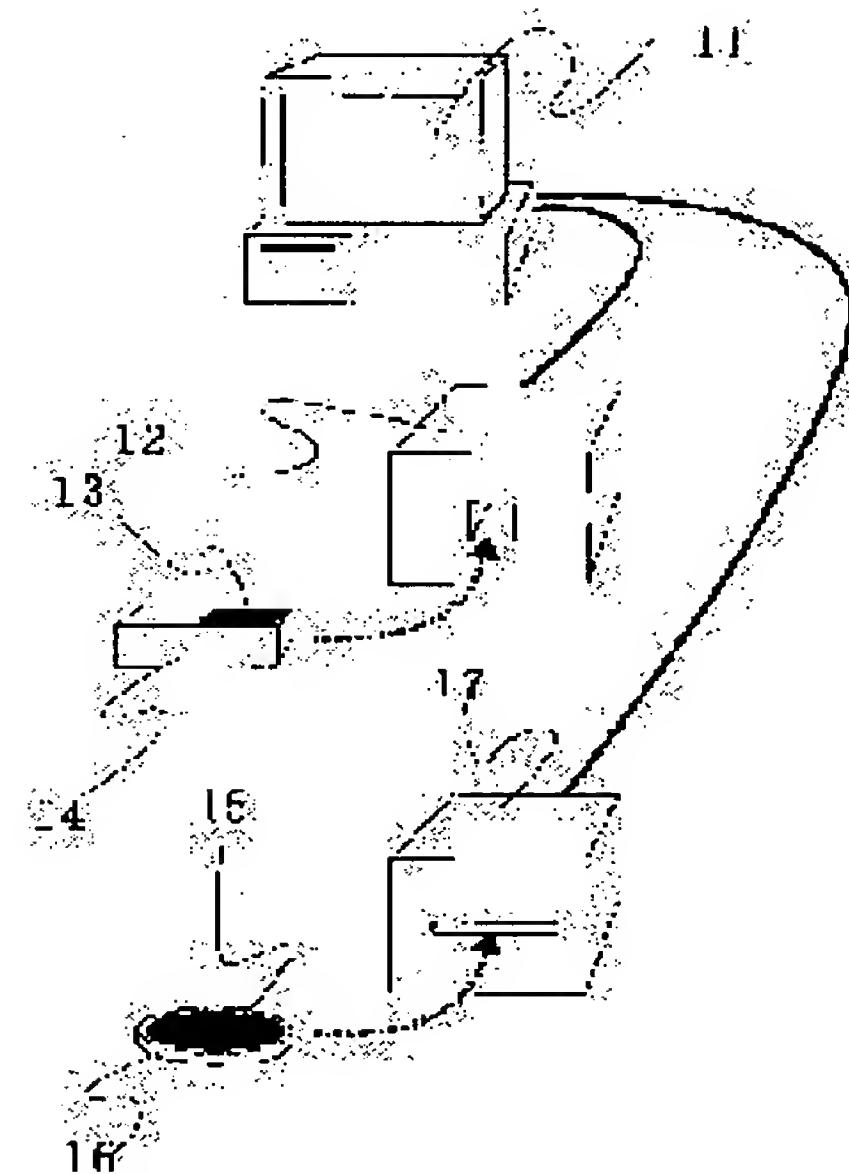
(72)Inventor : TAKEI HIROYUKI

(54) APPARATUS AND METHOD FOR OPTICAL BIOMOLECULE DETECTION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a high-sensitivity biomolecule connection-measuring apparatus that can be utilized easily.

SOLUTION: Cartridges 14 and 16 decorated with precious metal fine particles 13 and 15 are inserted into optical measuring instruments 12 and 17 for measurement, thus composing a simplified, high-sensitivity, sensor without requiring any mechanical operation.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 05.02.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3528800

[Date of registration] 05.03.2004

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-228662

(P2002-228662A)

(43) 公開日 平成14年8月14日 (2002.8.14)

(51) Int.Cl.⁷
G 0 1 N 33/543

識別記号

5 9 5
5 2 1
33/53
33/566
37/00F I
G 0 1 N 33/543

テマコード(参考)

5 9 5
5 2 1
33/53
33/566
37/00

M

1 0 2

審査請求 有 請求項の数10 O.L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2001-27636(P2001-27636)

(71) 出願人 000005108

(22) 出願日 平成13年2月5日 (2001.2.5)

株式会社日立製作所
東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地(72) 発明者 竹井 弘之
東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地
株式会社日立製作所ライフサイエンス推進
事業部内(74) 代理人 100075096
弁理士 作田 康夫

(54) 【発明の名称】 光学式生体分子検出装置及び光学式生体分子検出方法

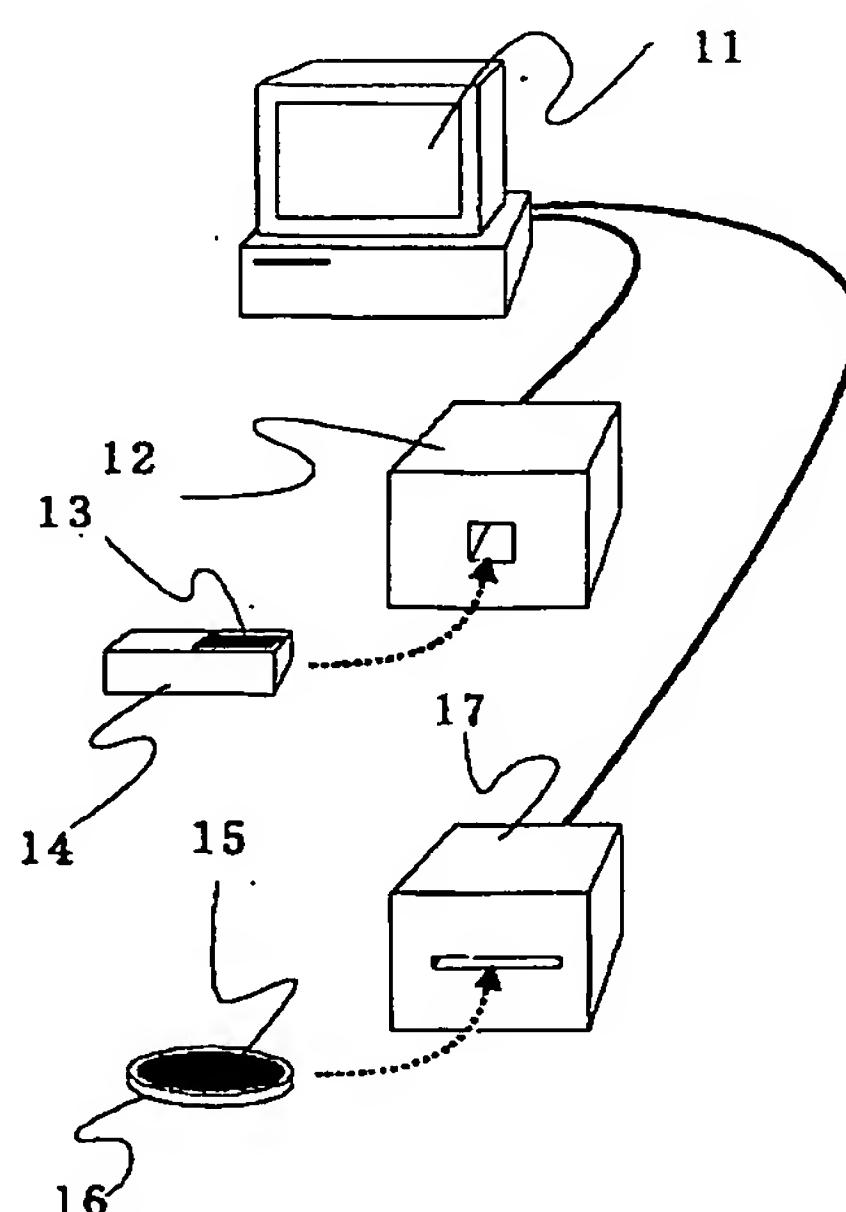
(57) 【要約】

【課題】 簡便に利用できる高感度な生体分子結合測定装置を提供する。

【解決手段】 貴金属微粒子13, 15で修飾されたカートリッジ14, 16を光学測定装置12, 17に挿入して測定する。

【効果】 高感度で、機械的な動作を必要としない簡素化されたセンサを構成できる。

図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】貴金属コーティングされた誘電体微粒子が、表面に形成されたカートリッジを挿入するための挿入口と、前記カートリッジ表面の光学特性を測定する光学測定装置とから構成されることを特徴とする生体分子検出装置。

【請求項 2】前記カートリッジは、前記カートリッジの表面が複数領域に分割されており、前記領域ごとに異なる光学特性の微粒子から構成、または異なる生体分子に修飾された微粒子から構成されることを特徴とする請求項 1 記載の生体分子検出装置。

【請求項 3】前記カートリッジ表面は一つまたは複数領域を有し、更に、検出プローブ光を前記領域上走査する手段を有することを特徴とする請求項 1 に記載の生体分子検出装置。

【請求項 4】前記検出プローブ光を領域上走査する手段は、位置が固定された検出プローブ光に対して前記カートリッジを移動する手段であることを特徴とする請求項 3 記載の生体分子検出装置。

【請求項 5】前記カートリッジ表面は複数領域を有し、前記複数領域を同時に照射して光学特性を測定する手段を有することを特徴とする請求項 1 記載の生体分子検出装置。

【請求項 6】前記挿入口は、前記カートリッジとアダプタと組み合わせて挿入するための挿入口であることを特徴とする請求項 1 の生体分子検出装置。

【請求項 7】カートリッジに、光学的、磁気的、又は機械的にマーキングする手段を、更に有することを特徴とする請求項 1 記載の生体分子検出装置。

【請求項 8】生体分子反応を終了させたカートリッジを挿入する挿入口と、検出された光学特性を光学測定装置に結合された記録手段にあらかじめ記憶させた光学特性データと比較する手段を有することを特徴とする生体分子検出装置。

【請求項 9】生体分子反応を終了させたカートリッジを挿入する挿入口と、前記カートリッジ表面に形成された参照用領域の光学特性と比較する手段を有することを特徴とする生体分子検出装置。

【請求項 10】カートリッジ表面で生体分子反応を行う工程と、カートリッジを生体分子検出装置に挿入する工程と、光学特性を測定する工程とを有し、生体分子を検出することを特徴とする生体分子検出方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、貴金属微粒子の光学特性を利用した免疫診断センサ、DNAチップ、蛋白チップおよびこれを利用した測定装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来のこの種のセンサとしては、表面ブ

ラズモン共鳴法を利用したセンサが挙げられる。表面プラズモンとは、金属薄膜と誘電体の界面を伝播する自由電子の疎密波であり、界面における誘電率に大きく影響されることから、免疫センサ、ガスセンサなど検出原理に用いられている。このセンサを応用した測定装置の具体的な構造例を図 2 に示す。プリズムなどの透明な高屈折率担体 21 の表面に約 50nm の金もしくは銀などの自由電子金属の薄膜 22 を形成し、薄膜 22 の上には分子認識層 23 が形成されている。薄膜 22 の表面プラズモンを励起するためにプリズム側から p 偏向の単色の平行光 24 を光源 25 から照射する。全反射する条件のもとで入射角度 26 を変化させながら、正反射光 27 を検出器 28 で検出することにより、表面プラズモンの励起が確認できる。すなわち、表面プラズモンが励起される共鳴入射角度 29 においては、入射光のエネルギーが表面プラズモン励起に消費されるため、反射光の強度 30 が極度に減少する。分子認識層 23 にターゲット生体分子が捕捉されている際には、共鳴入射角度 31 において反射光の強度 32 が極度に減少する。共鳴角度は界面から数 100 nm 以内の領域における誘電率に敏感に依存することから、共鳴角度を知ることにより金属表面に存在する分子認識層 23 に存在する分子の誘電率を特定することができるからセンサとして利用できる。たとえば、薄膜 22 の表面に特定の分子を認識して分子結合をする構造を作りおき、特定の分子の結合が生じると誘電率が変化するから、その分子に対応する反射角での反射光を監視していれば直ちに特定の分子が分子認識層 23 に捕らえられたことを知ることができる。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】上記従来技術の表面プラズモンセンサを利用した測定装置において、共鳴入射角度を測定するには、照射光の光源、金属薄膜、光検出器の位置関係を精度良く保持し、かつ駆動する必要がある。測定精度を向上するには、金属薄膜と光検出器の距離を大きく取ることが望ましいが、小型化および複数検体検出用を目的としたアレー化とは相容れない。また、表面プラズモン共鳴方法は温度に敏感であるため、装置全体の温度制御もしくは温度補正などが必要であり、やはり小型化には不向きである。

【0004】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、発明者らが最近発明した方法により調製された貴金属微粒子の光学現象を利用するものである。表面に生体分子が吸着すると色が変わる貴金属微粒子をカートリッジ表面に形成し、反応後に同カートリッジを光学測定装置に挿入し光学特性を測定することにより生体分子の結合を簡便かつ迅速に行う。貴金属コーティングされた誘電体微粒子が一層形成された表面を有するカートリッジを挿入するための挿入口と前記カートリッジ表面の光学特性を測定する光学測定装置から構成される生体分子検

出装置を用いる。カートリッジ表面が複数領域に分割されており、領域ごとに異なる光学特性の微粒子から構成、または異なる生体分子に修飾された微粒子から構成されることを特徴とするカートリッジを用いる。前記カートリッジ表面は複数領域を有し、検出プローブ光を前記複数領域上走査する手段を有することを特徴とする生体分子検出装置を用いる。カートリッジ表面は複数領域を有し、位置が固定された検出プローブ光に対して前記カートリッジを移動する手段を有することを特徴とする生体分子検出装置を用いる。前記カートリッジ表面は複数領域を有し、同複数領域を同時に照射し、光学特性を測定する手段を有することを特徴とする生体分子検出装置を用いる。生体分子反応を終了させたカートリッジを挿入する挿入口と、検出された光学特性を同光学測定装置に結合されたパソコンにあらかじめ記憶させた光学特性データもしくは、カートリッジ表面に形成された参照用領域の光学特性と比較する手段を有することを特徴とする生体分子検出装置を用いる。生体分子検出装置で生体分子を検出するにあたって、挿入されたカートリッジの表面に生体分子試料を外部から供給し、同カートリッジ表面の光学特性を測定可能とすることを特徴とする生体分子検出装置を用いる。同カートリッジをアダプタと組み合わせて挿入するための挿入口を有することを特徴とする生体分子検出装置を用いる。カートリッジを使用後、光学的、磁気的、又は機械的にマーキングする手段を有することを特徴とする生体分子検出装置を用いる。カートリッジ表面で生体分子反応を行う工程と、カートリッジを装置に挿入する工程、比較する工程を有し、生体分子を検出することを特徴とする生体分子検出方法による。さらに図を用いて説明する。図1に装置構成を示す。パソコン11に結合された光学測定装置12に、表面に貴金属微粒子が形成された領域13を有する棒型カートリッジ14を挿入し、領域13の光学特性を測定することにより、領域13における分子の吸着を判断する。または、貴金属微粒子が形成された領域15を有するディスク型カートリッジ16を光学測定装置17に挿入し、領域15の光学特性を測定することにより、領域15における分子の吸着を判断する。パソコン11に光学特性のデータを取り込み、同データの解析を行う。図3に貴金属微粒子の構造を示す。基板41の上に高分子、SiO₂、TiO₂等の微粒子42を一層形成し、金、銀、銅、白金等の貴金属を蒸着もしくはスパッタすることにより、微粒子42の上に金、銀、銅、白金等の帽子状微粒子43が形成できる(特開平11-1703)。貴金属微粒子が形成されたことにより、基板が顕著な発色を示す様になる(特開平10-339808)。この発色現象は、白色光が反射される際に、一部の波長帯域の光が吸収されることにより生じる。上記貴金属微粒子の吸収ピーク波長は表面の屈折率に依存するため、表面における屈折率が変化する様な反応を検出する原理として利

用でき(特開平11-326193)、また表面を抗体およびDNA等特異的吸着能を有する生体分子で修飾することにより、バイオセンサとして利用できる(特開2000-55920)。本特許出願は、上記バイオセンサの利便性を向上させるため、貴金属微粒子をカートリッジの形態で使用するものである。図4にさまざまなカートリッジの形態を示す。角型カートリッジ51の表面には、貴金属微粒子が形成された領域52があり、領域52は複数の領域に分割されている。それぞれの領域には、異なる特性の貴金属微粒子が形成されている。例えば、領域53と領域54には、異なる大きさの貴金属微粒子が形成されており、それぞれには異なった抗体が結合されている。ディスク型カートリッジ55の表面には、貴金属微粒子が形成された領域56があり、領域56は複数の領域に分割されている。それぞれの領域には、異なる特性の貴金属微粒子が形成されている。例えば、領域57と領域58には、異なる貴金属微粒子が形成されたおり、それぞれには異なったDNAが結合されている。棒型カートリッジ59の表面には、貴金属微粒子が形成された領域60があり、領域60は複数の領域に分割されている。それぞれの領域には、異なる特性の貴金属微粒子が形成されている。例えば、領域61と領域62には、異なる大きさの貴金属微粒子が形成されており、それぞれには異なった蛋白質が結合されている。

【0005】

【発明の実施の形態】実施例1

本発明の利用形態の一実施例を図5に示す。カートリッジ71表面の金微粒子形成領域72で、生体分子の特異的結合反応を行う。結合反応の終了後、カートリッジ71を光学測定装置73に挿入する。光学測定装置73は光学検出ヘッド74を備えている。光学検出ヘッド74は、光源75および光学検出器76を有し、光源75からの反射光を光学検出器76で検出する。光学検出ヘッド74はアーム77に保持されており、アクチュエータ78で駆動することにより、光学検出ヘッド74を移動させることができる。これにより金微粒子形成領域72の任意の領域の光学特性を検出することができる。

実施例2

本発明の利用形態の一実施例を図6に示す。カートリッジ81表面の金微粒子形成領域82で、生体分子の特異的結合反応を行う。結合反応の終了後、カートリッジ81を光学測定装置83に挿入する。光学測定装置83は光学検出ヘッド84を備えている。光学検出ヘッド84は、光源85および光学検出器86を有し、光源85からの反射光を光学検出器86で検出する。カートリッジ81はアーム87に保持されており、アクチュエータ88で駆動することにより、カートリッジ81を移動させることができる。これにより金微粒子形成領域82の任意の領域の光学特性を検出することができる。

実施例3

本発明の利用形態の一実施例を図7に示す。角型カートリッジ91の表面には銀微粒子領域92が形成されている。領域92に隣接して参照領域93が形成されてある。参照領域93内の銀微粒子表面は生体分子結合反応が起こらない処理が施されている。角型カートリッジ91表面で生体分子結合反応を起こさせると、領域92では吸着に伴い反射スペクトル94が変化するが、参照領域93では吸着が生じないため、参照反射スペクトル95は変化しない。参照反射スペクトル95を用いることにより、領域92における反射スペクトルの変化量96を求めることができる。また、生体分子吸着反応前の反射スペクトル97をあらかじめパソコン98の記憶装置に記憶させ、生体分子吸着後の反射スペクトル99と比較すること、領域92における反射スペクトルの変化量100を求めることができる。

実施例4

本発明の利用形態の一実施例を図8に示す。カートリッジ111は金微粒子が形成された領域112を有する。カートリッジ111が光学測定装置113に挿入された状態で、領域112で生体分子結合反応を行うために、カートリッジ111には流路が形成されており、試料供給装置114を用いて試料を領域112に導入することができる。すなわち、試料供給装置114に備わっている試料注入口115に試料を注入すると、小型ポンプ116、バルブ117、チューブ118、注入流路119を介して、試料が領域112に導入される。過剰量な試料は排出流路120、チューブ121を介して、試料供給装置にもどる構成となっている。領域112における生体分子吸着反応は、光学ヘッド122により検出される。

実施例5

本発明の利用形態の一実施例を図9に示す。光学測定装置131にカートリッジを挿入する際、アダプタを利用することによりさまざまな形態のカートリッジに対応することができる。角型カートリッジ132をアダプタ133に挿入することにより、光学測定装置131のカートリッジ挿入口134の形状に適合させることができる。また、ディスク型カートリッジ135をアダプタ136に挿入することも可能である。また、複数個の棒状カートリッジ137を同一アダプタ138に挿入して利用することも可能である。

実施例6

本発明の利用形態の一実施例を図10に示す。カートリッジ141の表面には、磁気的に記憶できる領域142が存在する。カートリッジ141を光学測定装置143に挿入し、使用した後に、領域142に使用済みの情報144を書き込むことにより、再使用を防ぐ。これにより、クロスコンタミネーション等によるエラーを防止する。

【0006】

【発明の効果】本発明により、被検体の有無を高感度で検出できる簡単なセンサ及び検出装置を提供できた。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の装置構成一実施例を示す図。

【図2】従来技術の装置構成および原理を示す図。

【図3】本発明のセンサ上の貴金属微粒子を示す図。

10 【図4】複数の生体分子検出領域を有するカートリッジの例を示す図。

【図5】光学検出ヘッドを走査することによりカートリッジ表面を測定する例を示す図。

【図6】カートリッジを駆動することによりカートリッジ表面を測定する例を示す図。

【図7】反射スペクトルの測定の際、参照の取り方を示す図。

【図8】光学測定装置に挿入されたカートリッジに試料を供給する装置の一例を示す図。

20 【図9】異なる形状のカートリッジに対応したアダプタ使用例を示す図。

【図10】使用済みのカートリッジに印を記入する方法の一例を示す図。

【符号の説明】

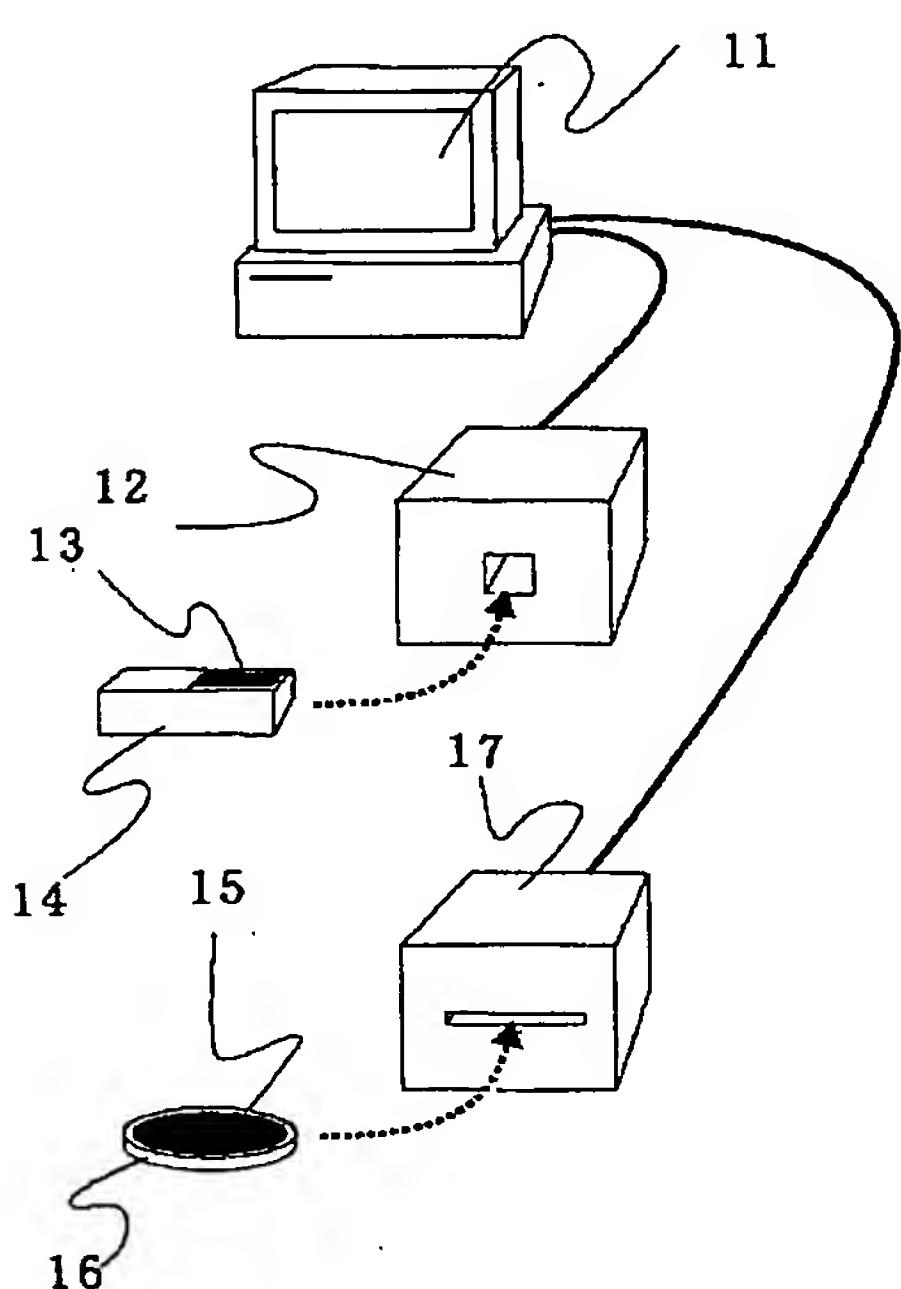
11：パソコン、12：光学測定装置、13：貴金属微粒子が形成された領域、14：棒型カートリッジ、15：貴金属微粒子が形成された領域、16：ディスク型カートリッジ、17：光学測定装置、21：高屈折率担体、22：自由電子金属の薄膜、23：分子認識層、24：単色の平行光、25：光源、26：入射光、27：正反射光、28：検出器、29：共鳴入射角度、30：入射角度依存性の反射光強度、31：新しい共鳴入射角度、32：反射光強度、41：基板、42：微粒子層、43：貴金属微粒子、51：角型カートリッジ、52：貴金属微粒子が形成された領域、53：領域、54：領域、55：ディスク型カートリッジ、56：貴金属微粒子が形成された領域、57：領域、58：領域、59：棒型カートリッジ、60：貴金属微粒子が形成された領域、61：領域、62：領域、71：カートリッジ、72：金微粒子形成領域、73：光学測定装置、74：光学検出ヘッド、75：光源、76：光学検出器、77：アーム、78：アクチュエータ、81：カートリッジ、82：金微粒子形成領域、83：光学測定装置、84：光学検出ヘッド、85：光源、86：光学検出器、87：アーム、88：アクチュエータ、91：角型カートリッジ、92：銀微粒子形成領域、93：参照領域、94：反射スペクトル、95：参照反射スペクトル、96：反射スペクトルの変化量、97：反射スペクトル、98：パソコン、99：反射スペクトル、100：反射スペクトルの変化量、111：カートリッジ、112：金微粒子形成領域、113：光学測定装置、114：試料供給装置、115：試料注入口、116：小型ポンプ、117：バルブ、118：チューブ、119：注入

流路、120：排出流路、121：チューブ、122：光学ヘッド、131：光学測定装置、132：角型カートリッジ、133：アダプタ、134：カートリッジ挿入口、135：ディスク型カートリッジ、136：アダ

プタ、137：棒状カートリッジ、138：アダプタ、141：カートリッジ、142：磁気記録領域、143：光学測定装置、144：使用済みの情報。

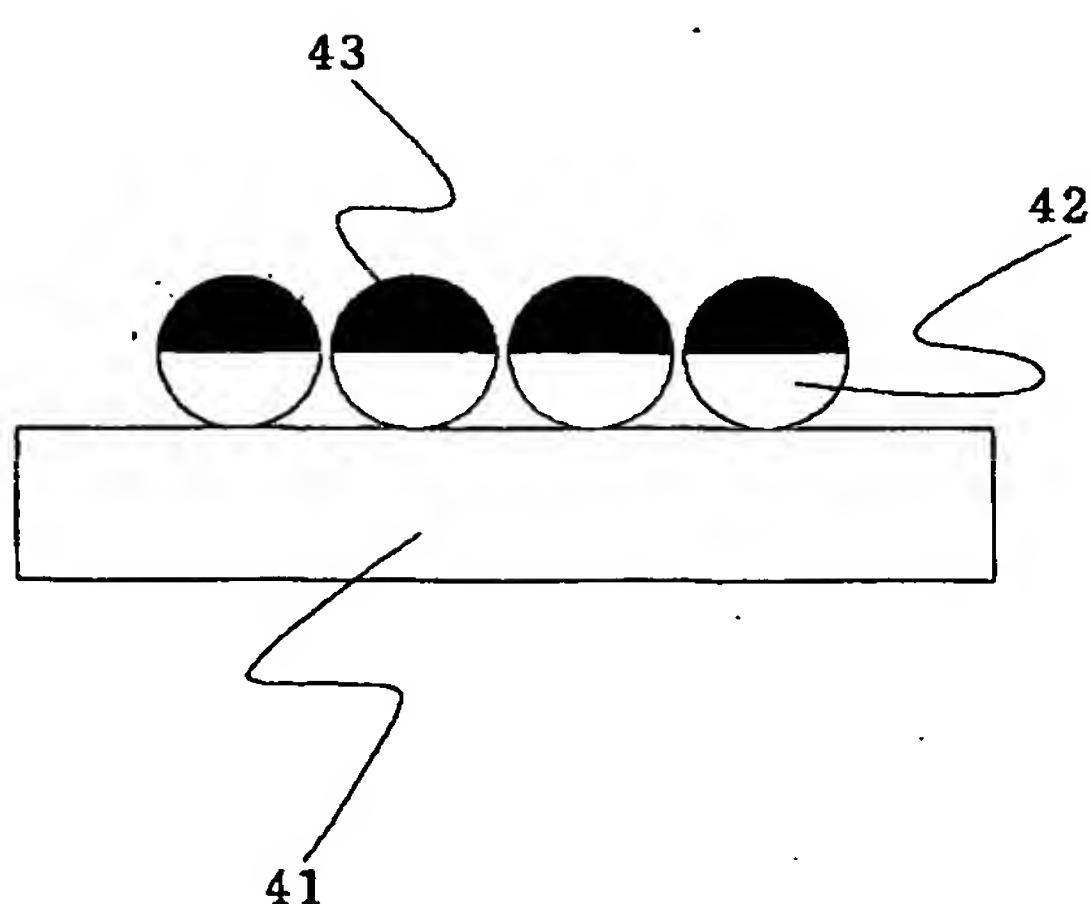
【図1】

図1



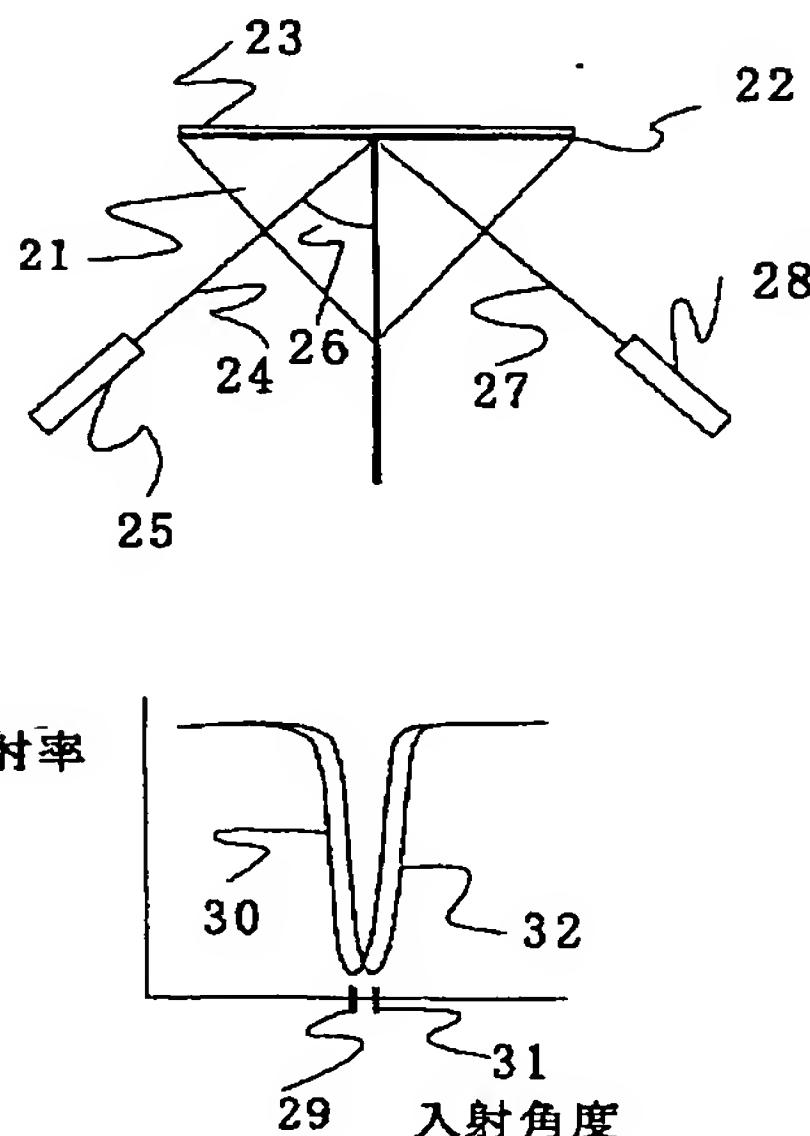
【図3】

図3



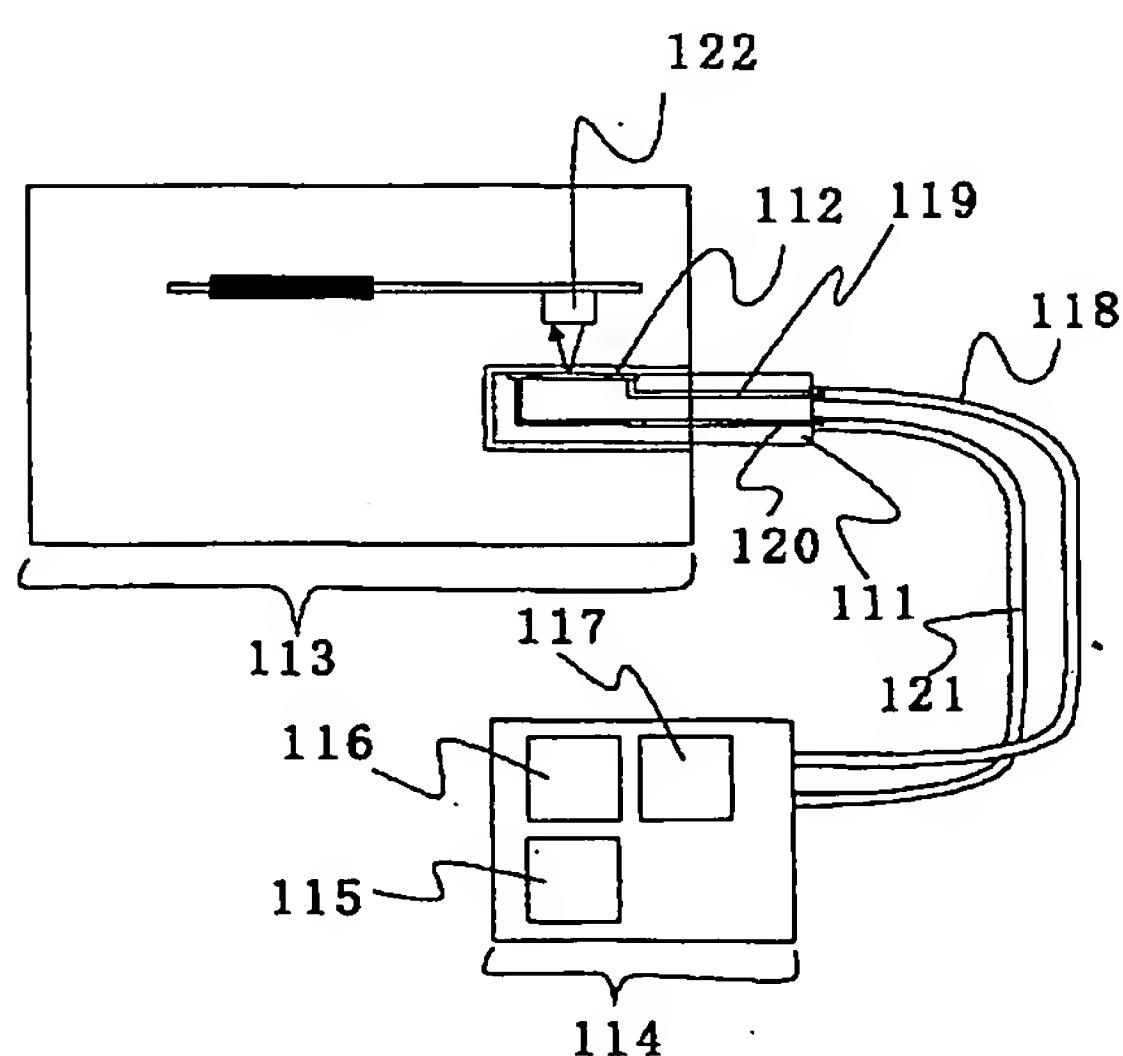
【図2】

図2



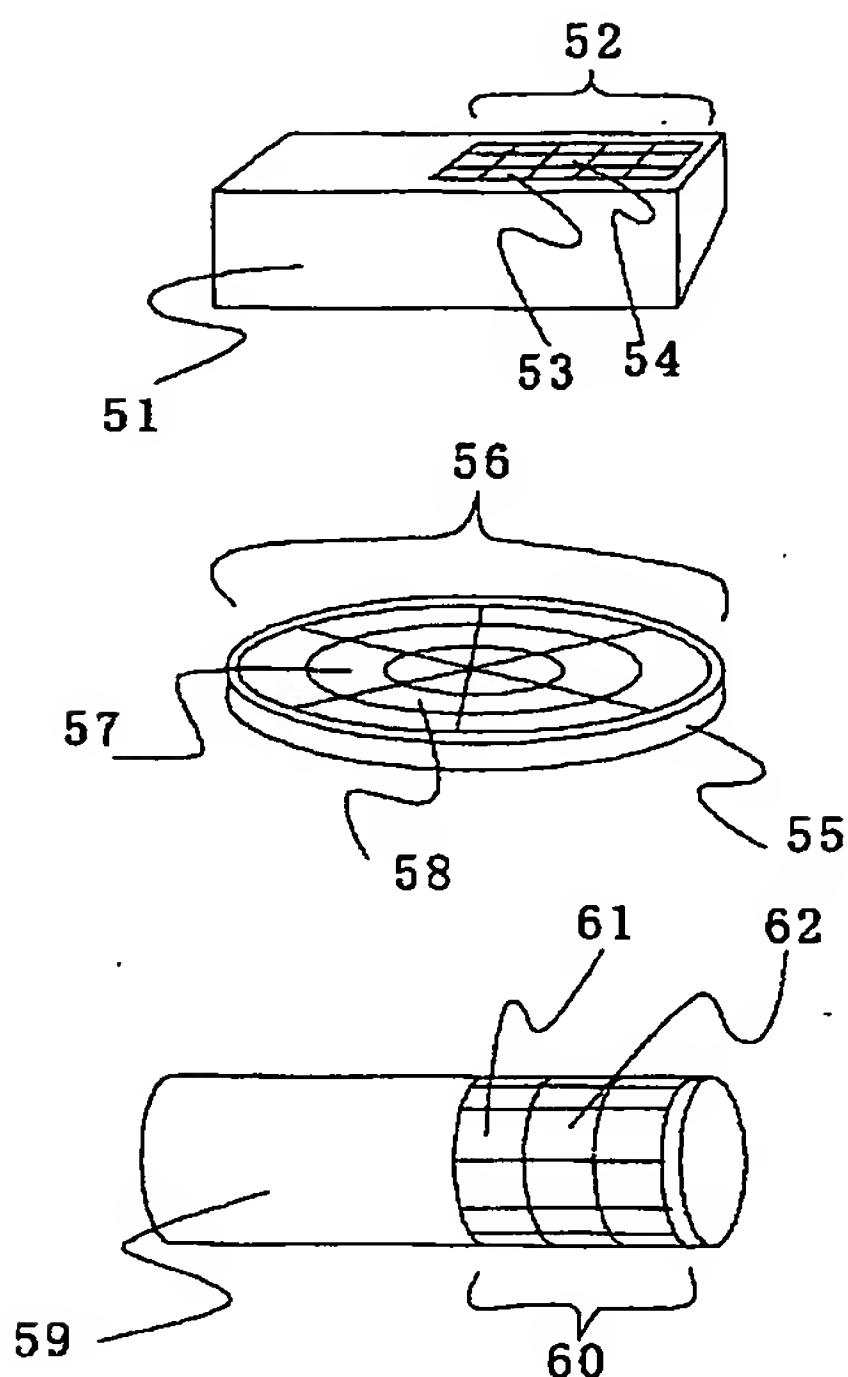
【図8】

図8



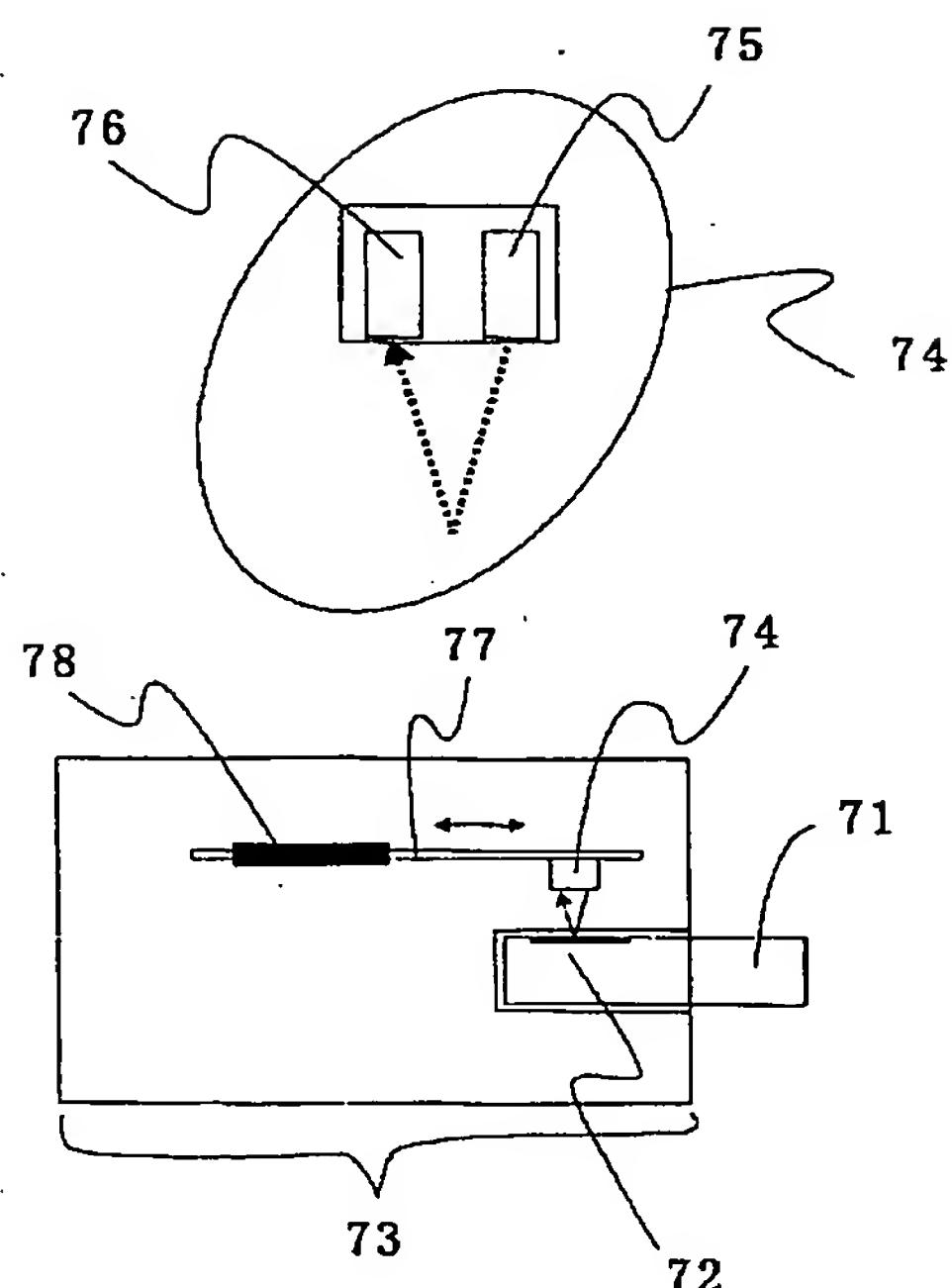
【図4】

図4



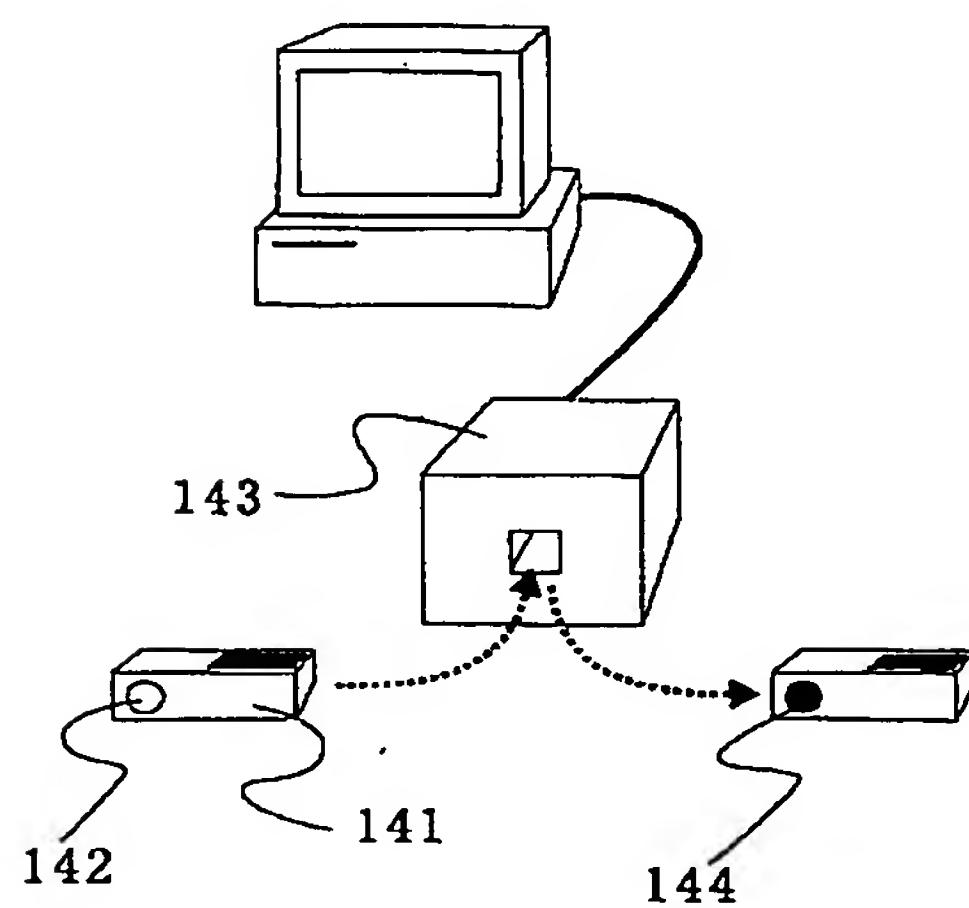
【図5】

図5



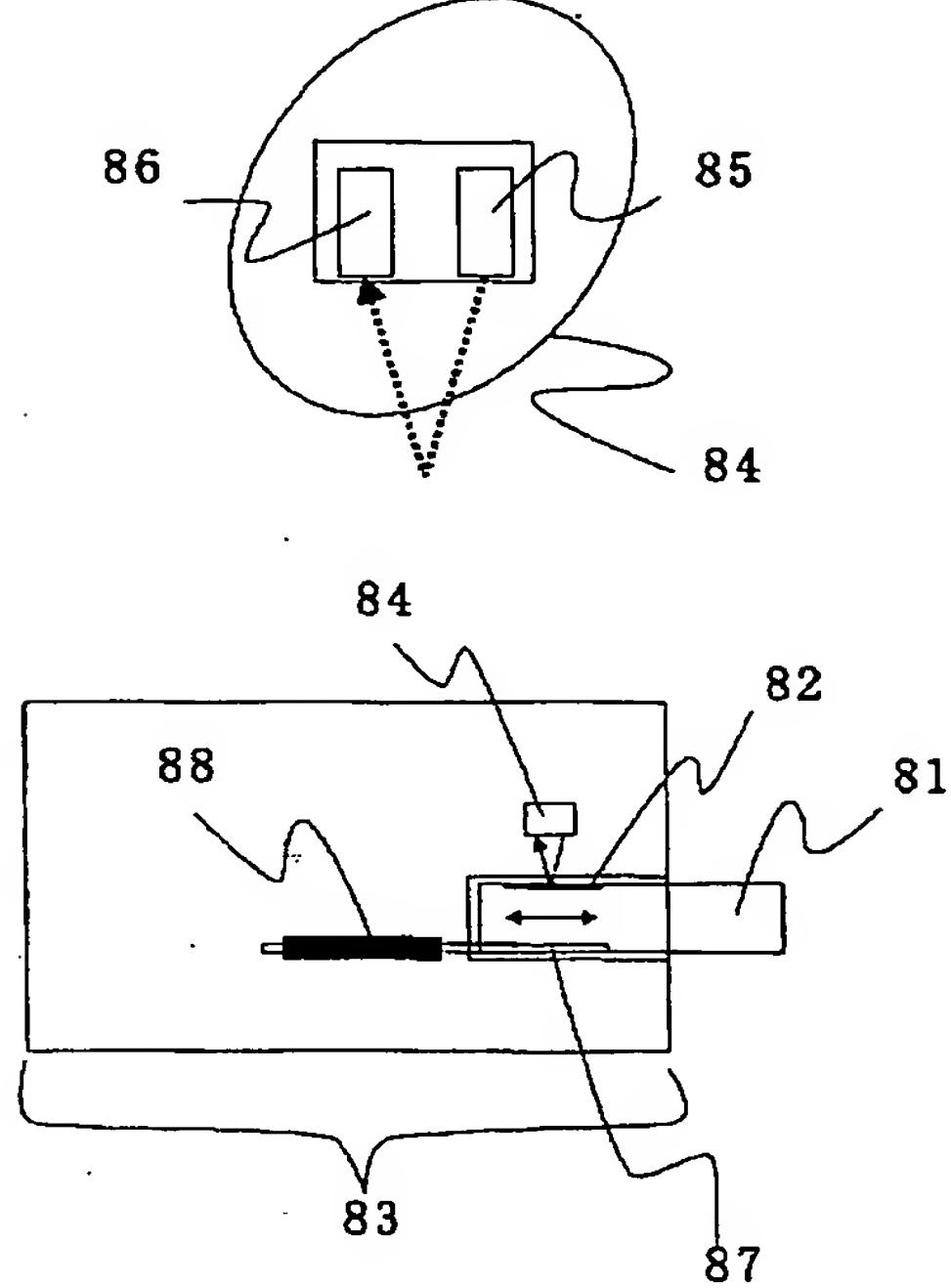
【図10】

図10



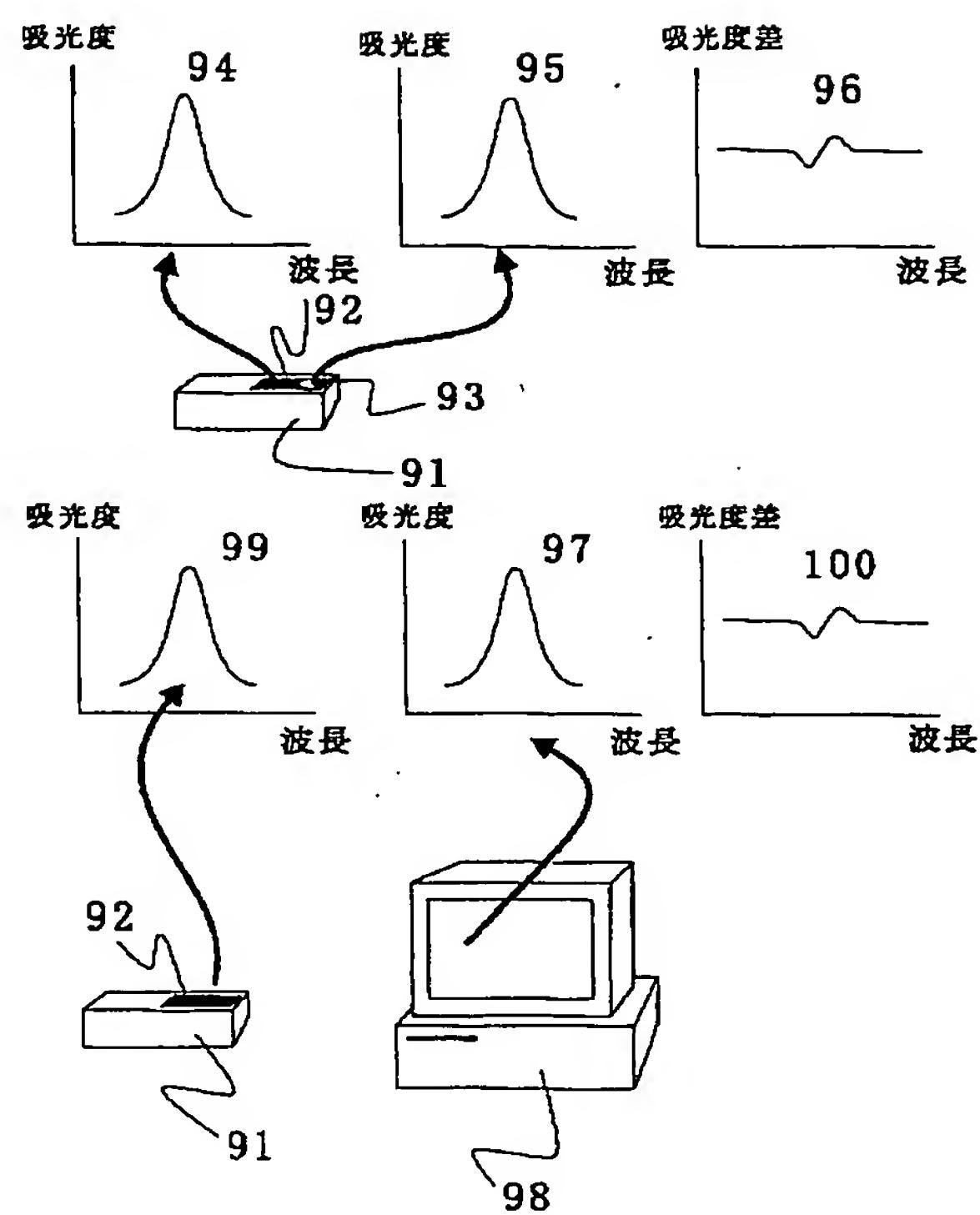
【図6】

図 6



【図7】

図 7



【図9】

図9

